



Restrição de suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos.

Bruno Alexandre Ferreira Correia

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Zootécnica – Produção Animal

Orientador: Doutora Maria Madalena dos Santos Lordelo, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Júri:

Presidente: Doutora Luísa Almeida Lima Falcão e Cunha, Professora Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutor Carlos Mendes Godinho Andrade Fontes, Professor Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa

Doutora Maria Madalena dos Santos Lordelo, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Lisboa, 2010

Aos meus pais

Agradecimentos

Começo por agradecer à Professora Doutora Madalena Lordelo por todos os conhecimentos que me transmitiu, pelo seu empenho e dedicação na realização deste trabalho, bem como a sua amizade. O meu muito obrigado.

Ao Professor Doutor Carlos Fontes, à Eng.^a Teresa Ribeiro e restante equipa da Faculdade de Medicina Veterinária pela colaboração na realização deste trabalho, sem a ajuda dos quais este trabalho não seria possível.

À Professora Doutora Luísa Falcão e Cunha pelos seus ensinamentos, boa disposição, amizade e pelo seu estímulo e espírito crítico que muito me ajudou.

Aos funcionários da Secção de Zootecnia do Instituto Superior de Agronomia, nomeadamente ao Senhor José António, à D. Lúcia e à D. Cesaltina, por toda a ajuda ao longo do ensaio experimental.

Ao Senhor António Paixão pela colaboração prestada durante a realização do ensaio, nomeadamente na limpeza da sala.

Ao Nuno Alexandre Franco, amigo de longa data, pelo apoio que sempre me manifestou nos momentos mais difíceis desta caminhada. Obrigado pelo teu apoio e amizade.

À Doutora Carla Mateus e Silva pelos seus ensinamentos e amizade, bem como pela opinião na elaboração deste trabalho escrito.

À Doutora Vanda Santos pela coragem que sempre me transmitiu e pela ajuda na revisão deste trabalho escrito.

Aos meus Padrinhos e respectivas famílias pela ajuda durante os anos do curso, que sempre me manifestaram a sua amizade e encorajaram.

Aos meus primos, João André e Berta Sofia, pela amizade e incentivo ao longo do meu percurso universitário.

Ao Francisco Sales O.F.M. e ao Paulo Ferreira O.F.M. pela amizade

À Ana Patrícia Ferreira, à Ana Rita Mendes, à Joana Ribeiro e à Sandra Gaspar pela vossa colaboração durante a realização do ensaio e pela vossa amizade.

Aos meus colegas de curso que comigo compartilharam estes anos, embora não os nomeie pois poderia correr o risco de omitir alguém, agradeço a amizade e a entreativa que sempre e sem reservas me dispensaram.

À Eng.^a Ana Alexandra que sempre esteve presente nestes anos de curso, com quem compartilhei momentos difíceis, e vitórias, o meu muito obrigado não só pelo apoio como também pela ajuda na realização deste trabalho.

Um agradecimento sentido, do fundo do coração, aos meus pais por todos os esforços e sacrifícios que fizeram para que eu pudesse chegar a onde cheguei. Sem eles não teria conseguido chegar aqui. Para eles o meu mais sentido Obrigado!

À Cátia Correia, minha irmã, pela ajuda e estímulo que sempre me deu.

Aos meus avós e restante família por estarem sempre presentes na minha vida.

Agradeço ainda ao meu afilhado pela sua amizade e pelos bons momentos que temos passado juntos.

Aos meus amigos, os de ontem, os de hoje e os de amanhã, sabem que podem contar comigo.

Resumo

O valor nutritivo do trigo é variável dependendo do teor em polissacáridos não amiláceos que não são degradados pelos monogástricos. A suplementação com enzimas exógenas, que permite aumentar a digestibilidade e melhorar a disponibilidade de nutrientes, representa no entanto um custo acrescido. Este estudo pretende analisar a possibilidade da restrição da suplementação a períodos específicos. Cento e vinte pintos machos foram alimentados com uma dieta de trigo suplementada (B4 – dos 1 aos 36 dias; B3 – dos 9 aos 36 dias; B2 – dos 18 aos 36 dias; B1 – dos 27 aos 36 dias) ou não (B0), em diferentes períodos, com uma xilanase comercial. Registou-se o peso vivo e a ingestão semanalmente. Aos 36 dias abateram-se 8 aves por tratamento, recolheu-se o digesta do tubo digestivo para determinar a viscosidade e a actividade enzimática. Registaram-se as dimensões de vários órgãos do sistema gastrointestinal. Houve uma melhoria do peso vivo e do índice de conversão das aves dos tratamentos B4, B3 e B2 relativamente a B0. A viscosidade do digesta do íleo no tratamento B4 foi inferior relativamente a B0. Não se verificaram diferenças significativas nas dimensões dos órgãos do tubo digestivo. Conclui-se que podemos restringir a suplementação com xilanases a períodos finais do ciclo produtivo.

Palavras-chave: xilanases, frangos de carne, polissacáridos não amiláceos, trigo, suplementação enzimática.

Abstract

The nutritional value of wheat varieties depend on the content of non-starch polysaccharides which cannot be degraded by monogastric animals. Supplementation with exogenous enzymes can improve digestion and nutrient availability, but represents an expensive cost when it is used throughout the production cycle. This study analyzed the restriction of enzyme supplementation to specific periods. One hundred and twenty broilers were fed a wheat based diet supplemented (B4 – from 1-36 days; B3 – from 9-36 days; B2 – from 18-36 days; B1 – from 27-36 days) or not (B0), in different periods, with a commercial xylanase. Feed consumption and individual body weight were recorded weekly. At day 36, 8 birds per treatment were killed, digesta samples were collected from the gastrointestinal compartments for viscosity and enzyme activity. Weights and lengths of the digestive organs were measured. There was an improvement of body weight and feed conversion ratio in B4, B3 and B2 birds compared to B0. The viscosity of the ileum digesta in treatment B4 was lower than B0. There were no significant differences in the sizes of the organs of the digestive tract. Overall, we conclude that it is possible to restrict the supplementation of xylanase to the final period of the production cycle.

Key words: xylanases, broilers, wheat, enzymes, non-starch polysaccharides, enzymatic supplementation.

Extended abstract

Wheat is the most used grain in Europe and second in Portugal for the manufacture of animal feed due to its palatability and energy content. Its nutritional value varies greatly depending on the content of non-starch polysaccharides. These are complex structural carbohydrates that are in the endosperm of cereals and can be soluble or insoluble. The soluble ones cause anti-nutritional problems as their presence increases the production of mucus secretion and promotes the increase of digesta viscosity while reducing the contact between the enzymes and nutrients that are encapsulated within the cell walls.

The non-starch polysaccharides can be divided into three main groups: cellulose, non-cellulosic polymers (arabinoxylans, β -glucans, galactans and xyloglucans) polysaccharides and pectins. Arabinoxylans are non-starch polysaccharides abundant in the cell walls of wheat and rye grain. They have a complex chemical structure which is composed of xylose and arabinose, and are responsible for the increased viscosity of the digestive tract.

Monogastric animals do not produce enzymes to degrade these polysaccharides. Supplementation with exogenous enzymes, including xylanases, can increase digestibility and improve the availability of nutrients. There are studies that evaluate the enzyme supplementation throughout the production cycle, but the enzyme supplementation is a added cost to producers.

For this reason, the objective of this study is to evaluate if xylanase supplementation of wheat-based diets can be restricted to the later periods of animal life, thus, decreasing enzyme supplementation costs to the producer.

One hundred and twenty one day-old male commercial broiler chicks were fed a wheat based diet supplemented in specific periods (B4 – from 1-36 days; B3 – from 9-36 days; B2 – from 18-36 days; B1 – from 27-36 days) or not supplemented (B0) with a commercial xylanase mixture. Feed consumption and individual body weight were recorded weekly. At day 36, 8 birds from each treatment were killed. Digesta samples were collected from the various gastrointestinal compartments for viscosity and enzyme activity. Weights and lengths of the digestive organs were measured. Data were subjected to ANOVA according to the general linear models procedure. Duncan's multiple-comparison procedure (SAS Institute, 2001) was used to detect significant differences. Differences were considered significant when $P < 0.05$

There was a significant decrease in body weight of animals fed a diet without enzyme supplementation (B0) in comparison to those fed the supplemented diet from 27 to 36 days

(B1). The weight of animals subjected to treatments B2 and B3 showed similar weight to that of animals subjected to treatment B4, at day 36.

Enzyme supplementation had no influence in feed intake of birds subjected to the various treatments.

Feed conversion ratio (FCR) at an early stage (0 to 27 days) was not significantly different between the various treatments. From day 27 to 36, B4 had a significantly better FCR than B0 and B1 which suggest that animals take sometime to respond to enzyme supplementation.

There were no significant differences in the viscosity of digesta from the duodenum and jejunum, but there is a visible trend of a lower viscosity in animals whose diet was supplemented throughout the production cycle (B4). Animals whose diet was supplemented throughout the production cycle (B4) had lower ileum digesta viscosity than animals whose diet was not supplemented (B0). However the animals whose diet was supplemented during some periods of the production cycle (B1, B2 and B3) tend to have a lower viscosity when compared to animals of treatment B0.

The results show that the relative sizes of digestive organs were not significantly different between treatments.

The results of this experiment showed that animals whose diet was supplemented with enzyme have better performance when compared to animals on a diet not supplemented. However, these results are more visible when supplementation occurs after 21 days (B3 and B2).

Thus, reducing the time of enzyme supplementation to a later stage of the production cycle of birds, is sufficient to yield performances similar to full supplementation.

Índice

Agradecimentos	2
Resumo.....	4
Abstract.....	5
Extended Abstract	6
Índice	8
Índice de figuras.....	10
Índice de quadros.....	11
Lista de abreviaturas	12
Capítulo I - Introdução	13
Capítulo II – Revisão Bibliográfica	14
1. A produção de cereais	14
1.1. Trigo	14
2. Frangos de carne.....	17
2.1. Sistema digestivo e digestão	17
2.2. Necessidades nutricionais	20
3. As enzimas	21
3.1. Uso de enzimas	22
4. Polissacáridos não amiláceos	23
5. Estudos realizados.....	26
6. Objectivo	26
Capítulo III – Materiais e Métodos	27
1. Preparação do alimento concentrado base	27
2. Aves e instalações	28
3. Procedimentos analíticos	30
4. Análise estatística	31
Capítulo IV – Resultados.....	32
1. Performances zootécnicas	32
1.1. Peso vivo	32
1.2. Alimento ingerido	33
1.3. Índice de Conversão	34

2. Viscosidade do digesta	35
3. Dimensões dos órgãos do sistema digestivo.....	36
4. Actividade enzimática	39
Capítulo V – Discussão	42
Capítulo VI – Conclusão	46
Capítulo VII – Referências Bibliográficas.....	47

Índice de figuras

Figura 1 – Representação esquemática de um grão de trigo (adaptado McDonald, 1995) ...	15
Figura 2 – Sistema digestivo das aves	17
Figura 3 – Estrutura molecular dos arabinosilanos presentes no trigo	24
Figura 4 – Esquema representativo dos tratamentos	29
Figura 5 – Distribuição dos tratamentos por gaiola	29
Figura 6 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos no digesta das aves.....	36
Figura 7 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos nas dimensões relativas dos órgãos do tracto gastrointestinal das aves	37
Figura 8 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos nas dimensões relativas dos órgãos do tracto gastrointestinal das aves (em cm)....	38
Figura 9 – Exemplificação da metodologia para avaliação da actividade xilanásica em amostras de digesta de dois animais do tratamento B0 (sem enzima) utilizando placas de agar contendo xilano. As áreas de actividade xilanásica aparecem como zonas descoradas, num fundo vermelho. Abreviaturas: P – papo, M – moela, D – duodeno, J – jejuno, I – ileo, C – Cecos	40
Figura 10 – Exemplificação da metodologia para avaliação da actividade xilanásica em amostras de digesta de dois animais do tratamento B4 (com enzima) utilizando placas de agar contendo xilano. As áreas de actividade xilanásica aparecem como zonas descoradas, num fundo vermelho. Abreviaturas: P – papo, M – moela, D – duodeno, J – jejuno, I – ileo, C – Cecos	40

Índice de quadros

Quadro 1- Composição química do trigo (adaptado de Mateos et al., 2003)	15
Quadro 2- Composição centesimal, química e valor energético do alimento concentrado base	27
Quadro 3- Tratamentos em estudo	29
Quadro 4 – Determinação da viscosidade e actividade enzimática nas amostras de trigo ...	32
Quadro 5 – Composição química da amostra de trigo	32
Quadro 6 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos no peso vivo das aves (g/ave)	33
Quadro 7 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos na ingestão semanal das aves (g/ave).....	33
Quadro 8 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas á base de trigo para frangos no índice de conversão das aves.....	34
Quadro 9 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas á base de trigo para frangos na viscosidade do digesta das aves (em cpo)	35
Quadro 10 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos nas dimensões relativas dos órgãos do tracto gastrointestinal das aves	37
Quadro 11 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos nas dimensões relativas dos órgãos do tracto gastrointestinal das aves (em cm)	38
Quadro 12 – Avaliação da actividade xilanásica nas amostras de digesta do papo, moela e duodeno	39
Quadro 13 – Avaliação da actividade xilanásica nas amostras de digesta do jejuno, íleo e cecos	39

Lista de abreviaturas

ADF – Fibra Acido Detergente

ADL – Lenhina Acido Detergente

CEP – Preparações Comercias de Enzimas

EM – Energia Metabolizável

FAO – Food and Agriculture Organization

FB – Fibra Bruta

FEDNA – Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal

H - Humidade

ISA – Instituto Superior de Agronomia

NDF – Fibra Neutro Detergente

NSP – Non-starch polysaccharides

PNA – Polissacáridos não amiláceos

PB – Proteína Bruta

pH – simétrico do logaritmo (co-logaritmo) decimal da actividade hidroniónica

Capítulo I – Introdução

Nos últimos anos a produção e o consumo de frangos de carne sofreu um grande aumento, devido ao baixo custo da carne e também ao aconselhamento dos nutricionistas pelo consumo de carnes brancas.

Este aumento da produção foi conseguido graças ao desenvolvimento e melhoramento genético dos frangos que permitiu reduzir o tempo necessário para obter um frango para consumo. Aliado a este aumento da procura e na tentativa de produzir cada vez mais barato, mas com qualidade, a indústria avícola tem recorrido a matérias-primas substitutas do milho, nomeadamente o trigo, cevada, centeio e seus sub-produtos. No entanto estas gramíneas têm na sua constituição diversos factores anti-nutritivos conhecidos como, por exemplo, os arabinoxilanos e os β -glucanos que têm um efeito negativo na performance zootécnica das aves.

Assim, reveste-se de extrema importância o uso de enzimas que permitam reduzir e minimizar estes efeitos anti-nutricionais, permitindo também uma melhoria nas condições produtivas. Mas se por um lado o uso de enzimas (suplementação enzimática) permite o uso de matérias-primas mais baratas, o seu uso continuado aumenta os custos com a alimentação.

O objectivo deste trabalho é avaliar a possibilidade de restringir a suplementação enzimática num determinado período do ciclo produtivo de frangos de carne.

Capítulo II – Revisão bibliográfica

1. A produção de cereais

Desde o surgimento do fenómeno agrícola no Crescente Fértil (Médio – Próximo Oriente) que o ser humano se tem dedicado à produção de cereais para a sua subsistência e dos animais que foi domesticando.

A produção de cereais foi-se alargando e proliferou ao longo dos séculos por várias zonas do globo tendo chegado à Etiópia, Grã-Bretanha, Espanha e China. Com a revolução industrial no século XVIII a produção atingiu picos extraordinários.

Mas se por um lado a produção de cereais tem vindo a aumentar, o crescimento das sociedades tem feito disparar o consumo de alimentos.

Segundo uma previsão da FAO (*Food and Agriculture Organization*) para a produção mundial de cereais, em 2007, havia uma grande expansão na produção de cereais. Contudo e devido ao uso de cereais no fabrico de biocombustíveis, a elevada procura destes tem influenciado fortemente o preço de mercado, fazendo disparar o preço por quilo dos mesmos. O relatório acrescenta que, os preços dos produtos básicos agrícolas subiram bruscamente em 2006, como consequência de um aumento na procura tanto para a alimentação humana e animal, como para a utilização industrial. (FAO, 2007).

Paralelamente ao aumento da procura de cereais, devemos ainda considerar o constante aumento do preço do barril de petróleo que faz disparar os custos inerentes ao transporte dos mesmos.

1.1 O trigo

O trigo é a matéria-prima mais utilizada na União Europeia e a segunda em Portugal no fabrico de alimentos compostos destinados a aves. O seu valor energético é variável em função da cultivar - menor no trigo duro que no trigo mole uma vez que este tem menos amido, mais fibra e proteína -, do método de cultivo e do ano de colheita. Assim, podem-se verificar variações significativas nos valores energéticos, dependendo da cultivar e das condições de produção (McDonald et al., 1995; Leeson e Summers, 2001; Mateos et al., 2003), podendo ser atenuadas com o uso de enzimas.

O grão de trigo (Figura 1) contém 2 a 3 % de gérmen, 13 a 17% de farelo, 80 a 85% de endosperma do tipo farináceo. O principal hidrato de carbono do trigo é o amido (66% matéria seca) que é constituído por 25% de cadeias lineares de amilose. Os açúcares simples e os oligossacáridos solúveis representam 4%. A fracção fibrosa corresponde a 12% de fibra detergente neutra (NDF), contendo 4 a 5% de pentosanas e 0,5 a 1% de β -glucanos, facilmente digestíveis em ruminantes, coelhos e porcos mas de baixo valor nutritivo para frangos (Mateos et al, 2003). O teor em proteína do trigo é superior quando comparado com o do milho, no entanto é mais variável em função do clima. Este influencia a concentração e a disponibilidade de aminoácidos essenciais.

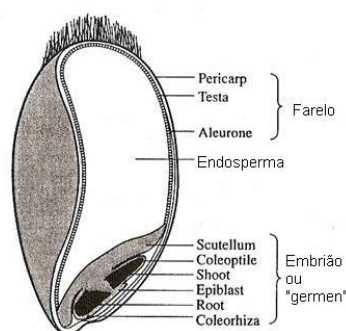


Figura 1 – Representação esquemática de um grão de trigo. Adaptado de McDonald et al. (1995).

A composição química do trigo (Quadro 1) é variável consoante a cultivar. No entanto podemos considerar que tem um teor de humidade de 10%, 13,8% de proteína bruta (PB), 1,8% de extracto etéreo, 2,9% de fibra bruta (FB), 11,9% de NDF, 3,9% de fibra detergente ácido (ADF), 1,3% de lenhina detergente ácido (ADL), 56% de amido e 2,5% de açúcares.

O trigo apresenta carências em minerais e vitaminas e a utilização de fósforo em monogástricos pode atingir os 50% se forem adicionadas fitases.

Quadro 1 – Composição química do trigo (expressa em % MS). Adaptado de Mateos et al, (2003).

H	Cinza	PB	Extracto etéreo	FB	NDF	ADF	ADL	Amido	Açúcares
10,0%	1,6%	13,8%	1,8%	2,9%	11,9%	3,9%	1,3%	56,0%	2,5%

A energia metabolizável (EM) é bastante variável entre as várias cultivares de trigo o que sugere que são as pentosanas - fracção não amilácea de polissacáridos constituída principalmente por arabinoxilanos - as responsáveis por esta variação (Mateos et al., 2003), visto existir uma relação inversa entre a disponibilidade dos nutrientes e a concentração de pentosanas solúveis (Annison e Choct, 1991). A variabilidade da EM do trigo pode ser reduzida se for adicionada uma xilanase, sendo esta redução mais visível em trigos de baixa qualidade que em trigos de boa qualidade.

Mateos et al. (2003) referem ainda que um aumento do teor em fibra associado a um menor teor de gordura (2%) e ácido linoleico (0,8%) e à ausência de pigmentos origina um valor nutritivo elevado, embora este seja inferior ao do milho. Associada a estas características está a boa palatabilidade do trigo em todos os animais. A sua incorporação nos regimes alimentares facilita a granulação, originando um grânulo resistente, motivo pelo qual algumas formulações têm um nível mínimo de incorporação.

2. Frangos de carne

2.1 Sistema digestivo e digestão

A obtenção de energia e nutrientes – água, proteína, lípidos, hidratos de carbono, minerais e vitaminas – são essenciais para a sobrevivência de todos os seres vivos. Face a estas necessidades as aves devem possuir um sistema digestivo bem desenvolvido de forma a possibilitar a ingestão e digestão dos alimentos ao longo do mesmo e permitir uma fácil absorção dos produtos finais.

O trânsito digestivo nas aves é rápido durando, em média dez horas, o que implica uma elevada eficiência dos mecanismos de digestão e absorção (Larbier e Leclerq, 1994), caso contrário os constituintes alimentares serão desperdiçados e libertados no meio ambiente. Uma deficiente absorção de nutrientes no tubo digestivo, conduzirá a um decréscimo na taxa de crescimento das aves (Frigård et al., 1994).

O peso do sistema digestivo reveste-se de grande importância dado que nos primeiros dias de vida representa 25% do peso vivo da ave, no entanto o peso do sistema digestivo vai diminuindo gradualmente até atingir menos de 5% do peso vivo às oito semanas de idade (Larbier e Leclerq, 1994).

Dada a importância do sistema digestivo das aves, iremos analisar a sua constituição em pormenor. A cavidade oral, o esófago, o papo, o proventrículo, a moela, o duodeno, o jejuno, o íleo, os cecos, o cólon e a cloaca fazem parte do sistema digestivo. As glândulas salivares, o pâncreas e o fígado são consideradas glândulas anexas.

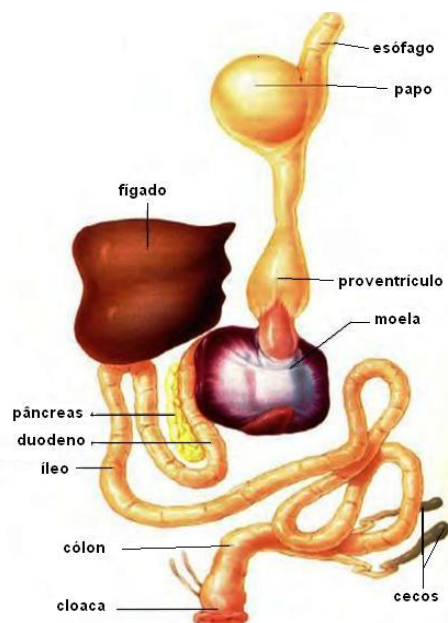


Figura 2- Sistema digestivo das aves

A cavidade oral dos frangos é composta pelo bico, língua, glândulas salivares e faringe. O bico é uma estrutura epidérmica queratinizada que permite a apreensão dos alimentos e condiciona a ingestão dos mesmos pois tem influência no tipo e tamanho do alimento a ingerir. A língua é constituída por uma massa muscular que auxilia na apreensão e deglutição dos alimentos. As glândulas salivares têm como função produzir saliva, que envolve o alimento facilitando a deslocação do mesmo para o esófago. O pH da saliva varia entre 6,7 e 6,9 e segundo Larbier e Leclerq (1994) contém iões bicarbonato e amilase. Pin-tea et al. (1977) referem que nas aves a amilase existente na saliva não apresenta actividade enzimática significativa devido aos baixos níveis de expressão. A faringe une a cavidade oral ao esófago.

O esófago localiza-se entre a faringe e o proventrículo ou estômago glandular. O papo é considerado como uma dilatação do esófago, tem uma grande capacidade de distensão servindo para armazenar os alimentos ingeridos e regular o trânsito digestivo na medida em que o alimento só passa para a moela quando esta se esvazia. No papo é produzido um muco com pH entre 4,4 e 4,9 que auxilia a deslocação do digesta ao longo do tubo digestivo. O papo encontra-se ligado ao proventrículo.

No proventrículo ou estômago glandular há a produção de ácido clorídrico e de pepsinogénio que constituem componentes do suco gástrico, sendo a sua produção estimulada pela presença de alimento começando aqui a degradação do mesmo.

A parte terminal do proventrículo está ligada à moela que é um órgão ligeiramente biconvexo, bastante musculoso e que se encontra na parte posterior do esterno. É neste compartimento do tubo digestivo que o alimento é triturado, devido a contracções rítmicas e fortes originadas pelas paredes musculosas. Internamente a moela ou estômago muscular é revestida por uma camada de glicoproteínas que a protegem da acção ácida e corrosiva do ácido clorídrico. Segundo Larbier e Leclerq (1994) o ácido clorídrico vai solubilizar os sais minerais, carbonatos de cálcio e fosfatos, ionizar electrólitos e desnaturar as estruturas terciárias das proteínas. É na moela que se inicia a hidrólise das proteínas assim como a digestão dos lípidos. O piloro - constrição muscular na porção terminal da moela - funciona como um crivo que deixa passar apenas as partículas de pequenas dimensões, o que facilita a digestão no intestino delgado (Larbier e Leclerq, 1994).

Nos frangos adultos o intestino delgado corresponde à maior parte do tubo digestivo. É subdividido em três secções, o duodeno, o jejuno e o íleo, não apresentando grandes diferenças estruturais (Larbier e Leclerq, 1994). É neste órgão que se desenrola a parte final da

digestão e da absorção e por este motivo a mucosa intestinal apresenta dobras microscópicas, também denominadas vilosidades que proporcionam o aumento da superfície de absorção. O epitélio do duodeno é revestido por lamelas que protegem o mesmo dos ácidos provenientes da moela. O duodeno encontra-se ligado à moela, tem a forma de “U” (Boleli et al., 2002) e nele estão inseridos os ductos biliares e pancreáticos, e é externamente envolvido pelo pâncreas. As secreções do duodeno são amarelas, contêm muco, electrólitos e enzimas (Labier e Leclerq, 1994).

Na parte terminal do duodeno inicia-se o jejuno que se prolonga até ao divertículo de Meckel. É a porção mais longa do intestino delgado. O íleo é delimitado pelo divertículo de Meckel e pela junção íleo-cecal. A maior parte da absorção dos nutrientes dá-se na parte do intestino delgado onde abundam as vilosidades lamiformes responsáveis pela absorção que devido à sua constituição são ricas em vasos sanguíneos e capilares linfáticos.

Os cecos fazem parte do intestino grosso e assemelham-se a dois sacos que contêm bactérias responsáveis pela actividade bacteriana que ocorre na parte terminal do tubo digestivo. Segundo Labier e Leclerq (1994) a digestão nesta zona é mínima, ocorrendo hidrólise parcial da celulose e de outros polissacáridos não amiláceos (PNA). Ocorrem também algumas fermentações bem como a degradação de proteínas pelas bactérias presentes nos mesmos.

Entre a junção íleo-cecal e a cloaca situa-se o cólon sendo nesta zona que se efectua a absorção de água e sais minerais. Após os processos de digestão e absorção os produtos finais são encaminhados para a cloaca para posteriormente serem expelidos do organismo, aqui terminam também os sistemas urinários e reprodutor.

O pâncreas e o fígado são glândulas anexas de extrema importância. O fígado tem várias funções no organismo nomeadamente a secreção da bÍlis, rica em sais biliares e outros constituintes (lípidos) que auxiliam na emulsão das gorduras. O suco pancreático é produzido pelo pâncreas e tem na sua constituição sais e enzimas que auxiliam na digestão dos alimentos.

2.2 Necessidades nutricionais

Os frangos têm capacidade para regular o consumo de alimento em função das suas necessidades energéticas, pelo que podemos alterar a composição da ração em função do preço das matérias-primas (FEDNA, 2008).

A forma de apresentação do alimento influencia a quantidade consumida pelos frangos e numa primeira fase, até aos 25 dias, se o alimento for dispensado sobre a forma de migalha ou microgranulado podemos melhorar o consumo entre 15 e 25%. O alimento na forma de granulado proporciona um melhor ganho médio diário, favorecendo deste modo o consumo e diminuindo as perdas de alimento. Considera-se ainda que nos primeiros 15 dias de vida deve ser fornecido aos frangos alimento na forma de migalha, entre os 18 e os 25 dias o grânulo pode ter dimensões entre 2,5 a 3 mm de diâmetro, e a partir dos 22-25 dias de idade pode-se fornecer grânulos com 3 a 3,5 mm de diâmetro.

Se a forma de apresentação condiciona a quantidade ingerida é também útil conhecer as necessidades dos frangos. Segundo alguns autores a proteína bruta num regime de iniciação deverá ser de 20,5% dado que as aves necessitam de crescer rapidamente. A partir dos 21 dias de idade o teor de PB pode ser diminuído para 17,5%.

O excesso de FB é prejudicial para as aves e pode diminuir o tamanho da moela (Mateos et al., 2006). Segundo a FEDNA, num frango jovem a percentagem de FB incluída na ração deve ser inferior a 2% para favorecer a mobilidade intestinal, o desenvolvimento da moela e a produção de ácido clorídrico e de enzimas digestivas.

O National Research Council (NRC, 1994) citado pela FEDNA recomenda que o teor de gordura num regime alimentar para frangos deveria ser de aproximadamente 1% em ácido linoleico.

O crescimento das aves, o desenvolvimento dos ossos e a eficiência alimentar são afectados pelo teor de cálcio presente na ração. Todos estes processos precisam de diferentes níveis de cálcio o que influencia a escolha da quantidade a adicionar. Além disso, é necessário atender à forma em que o cálcio se encontra para permitir a sua absorção. Quanto ao fósforo, embora se encontre na maioria das matérias-primas, muitas vezes está indisponível para absorção. A incorporação de fitases nos alimentos permite a utilização do fósforo fítico de origem vegetal. As doses de incorporação dos micronutrientes devem cobrir

as recomendações, contudo é importante que estes se encontrem numa forma que o animal consiga utilizar.

Sabe-se que os animais ingerem o alimento de acordo com as suas necessidades energéticas, sendo recomendado uma EM de 2900 kcal/kg para frangos dos 0 aos 18 dias e 3050 kcal/kg para frangos dos 18 dias até ao abate. Face a isto, ao alterar o valor energético das rações deve-se ter em atenção o equilíbrio dos aminoácidos, porque um défice dos mesmos implica um deficiente crescimento e desenvolvimento nos frangos.

3. As enzimas

O primeiro reconhecimento experimental da existência de uma enzima ocorreu em 1833 quando dois químicos Payen e Persoz verificaram que existia no extracto de malte uma substância termolábil que convertia o amido em açúcar. Contudo já nos finais do século XVII se sabia que os alimentos eram degradados graças aos conteúdos estomacais embora se desconhecesse ainda o mecanismo que estava subjacente a essa degradação. Vários cientistas aprofundaram o estudo das substâncias termolábeis e em 1878, Küne propõe a designação de enzima para estas substâncias.

Em 1946 James B. Summer, John H. Northrop e Wendell M. Stanley foram galardoados com o Prémio Nobel da Química devido as suas descobertas e obtenção de enzimas no estado puro. Graças a estes trabalhos foi possível através de raios X perceber como funcionam as enzimas e desenvolver um importante ramo da bioquímica (Nobel Prize in Chemistry, 1946).

Segundo Campos (2005) as enzimas são moléculas dotadas da propriedade de acelerar determinadas reacções químicas e a maioria das enzimas são proteínas, sendo a maioria constituída exclusivamente por polipéptidos. No entanto algumas enzimas para serem activas, além da parte proteica possuem ainda uma parte não proteica designada por cofactor.

As enzimas são proteínas globulares de grandes dimensões relativamente às moléculas do substrato. Este facto permite admitir que apenas uma pequena zona da enzima está envolvida no processo catalítico. Só um pequeno número de aminoácidos que constituem a enzima está envolvido no processo catalítico. Este grupo de aminoácidos constitui o centro activo da enzima, sendo neste local que o substrato se liga.

Quando uma enzima se combina com o substrato forma-se o complexo enzima-substrato, resultante do estabelecimento de ligações entre o centro activo da enzima e os grupos químicos da superfície da molécula do substrato.

Dado que as enzimas diferem dos outros tipos de catalizadores as mesmas possuem uma especificidade catalítica elevada. Como resultado, esta especificidade pode ser relativa ou absoluta consoante a enzima actua sobre um grupo de substâncias semelhantes quimicamente ou sobre um único substrato como acontece com a amilase salivar que actua exclusivamente sobre o amido.

Emil Fisher baseou-se na especificidade das enzimas e admitiu que o centro activo da enzima tinha uma estrutura onde apenas o substrato com forma complementar a esse centro se podia encaixar. Surgiu assim o modelo “chave-fechadura”. No entanto a actuação de algumas enzimas não era explicada por este modelo e em 1959 surgiu um novo modelo “de encaixe induzido” onde o centro activo da enzima sofre alterações após a ligação do substrato.

Dados recentes indicam que a enzima induz transformações no substrato e vice-versa havendo deste modo uma interação entre enzima e substato.

A actividade enzimática é afectada por vários factores, nomeadamente a temperatura, o pH, e a concentração da enzima e do substrato. Assim, a temperaturas baixas, as enzimas ficam inactivas devido à falta de energia de activação para provocar o choque entre as moléculas enzimáticas e o substrato. Quando a temperatura é demasiado elevada, ocorre desnaturação da proteína e a configuração do centro activo é modificada, inutilizando-se assim a proteína.

Quando o pH do meio é diferente do pH óptimo de actuação da enzima a actividade enzimática sofre um abrandamento ou redução.

3.1 Uso de enzimas

A utilização comercial das enzimas é muito diversa. São utilizadas no fabrico de detergentes pois hidrolisam as proteínas das manchas, no amaciamento e digestão de carnes, na clarificação de vinhos, na produção de bebidas alcoólicas, na indústria da panificação, no fabrico de queijos (Campos, 2005). Também Reis et al. (2001) salientam a utilização

de enzimas a nível da indústria nomeadamente na bio-lexiviação da pasta de papel, no tratamento de efluentes e resíduos agrícolas e industriais, no processamento de frutas, no tratamento de silagens permitindo o aumento da concentração de açúcares solúveis e na alimentação animal, nomeadamente na incorporação de dietas para animais monogástricos à base de cereais ricos em polissacáridos não amiláceos.

Os maiores avanços tecnológicos na alimentação animal são fruto da descoberta de novos ingredientes bem como do ajuste dos requisitos nutricionais. A utilização destes novos ingredientes assenta em parte no aumento dos custos de produção e das matérias-primas implicando desta forma o uso de alimentos como a cevada, a aveia, o trigo, o arroz e seus subprodutos, o que permite reduzir os custos com a alimentação (Dusel et al., 1998; Mateos et al., 2002; Bedford, 2000).

Segundo alguns autores a utilização de enzimas na alimentação animal, nomeadamente na produção avícola remonta há mais de 30 anos. Embora nos primórdios não se produzissem enzimas com o intuito de as aplicar na alimentação animal, estas eram provenientes de outras indústrias.

A primeira aplicação de enzimas na alimentação de aves foi a suplementação com β -glucanase em rações à base de cevada e posteriormente a suplementação com arabinoxilanas em rações à base de trigo e centeio.

A aplicação de enzimas nas indústrias de alimentação animal é bastante recente, contudo há dados que sugerem a sua aplicação em grande escala na alimentação de frangos de carne e em menor escala em suínos (Guenther, W., 1997).

O uso de enzimas na alimentação de frangos é permitido dado que as enzimas são produtos de fermentação e existem no tracto digestivo, não representando uma ameaça para os animais nem para os consumidores.

4. Polissacáridos não amiláceos (PNA)

A fracção fibrosa dos grãos de cereais é constituída essencialmente por PNA. Estes são carboidratos estruturais complexos que se encontram no endosperma dos grãos de cereais. Podem ser solúveis ou insolúveis em água, sendo os solúveis os que causam problemas antinutricionais. Os PNA podem ser divididos em três grupos principais: celulose,

polímeros não celulósicos arabinoxilanos, β -glucanos, mananos, galactanos e xyloglucanos e polissacáridos pépticos ácidos poligalacturónicos, que podem ser substituídos com arabinanos, galactanos e arabinogalactanos (Bailey, 1973; Choct, 1997).

A estrutura química dos arabinoxilanos é mais complexa que a dos β -glucanos sendo formados por dois tipos de açúcares: xilose e arabinose. São polímeros lineares de cadeia longa formados por unidades de D-xilose ligadas por ligações β (1-4) tendo ramificações na posição 2 e 3 de unidades de arabinose (Figura 3). Estas ramificações de arabinose são responsáveis pela solubilidade do polímero (Francesch, 1996). A solubilidade dos PNA é influenciada não só pelo tamanho e concentração da molécula como também pela quantidade e disposição das ramificações.

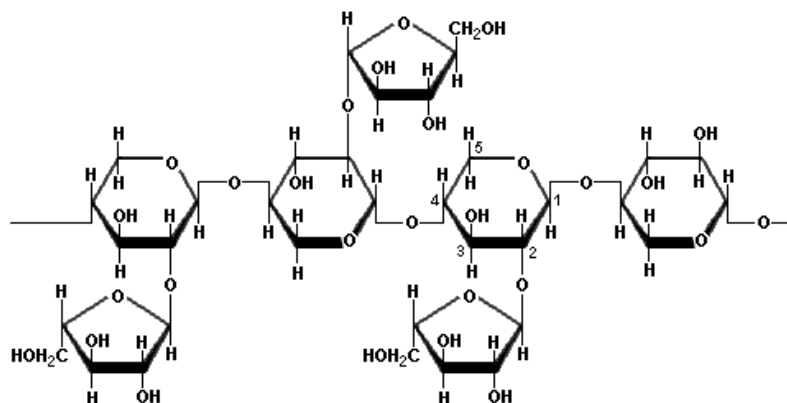


Figura 3 - Estrutura molecular dos arabinoxilanos presentes no trigo
(<http://www.scientificpsychic.com/fitness/arabinoxylan.gif>)

Os arabinoxilanos são os polissacáridos não amiláceos mais abundantes na parede celular dos grãos de trigo (Mateos et al, 1996) sendo os responsáveis pelo aumento da viscosidade do digesta, na medida em que se podem absorver grandes quantidades de água e, conseqüentemente a sua viscosidade. (Annison e Choct, 1991). Influencia ainda negativamente a interacção substrato-enzima, reduzindo assim a disponibilidade de nutrientes (Annison e Choct, 1991; Friesen et al. 1992). Face a esta situação, o crescimento de animais jovens (Reis, TA, et al, 2001) é afectado negativamente, uma vez que estes têm dificuldade em aumentar o consumo de alimento para compensar o efeito diluente da fracção fibrosa (Campbell, 1993).

As pentosanas solúveis são compostas essencialmente por arabinose e xilose, tendo sido consideradas durante muito tempo como o principal constituinte anti-nutritivo do centeio e também consideradas como factor antinutricional do trigo. Segundo Campbell (1993)

este facto não é surpreendente na medida em que existe uma relação estreita entre o centeio e o trigo devido à incorporação no genoma deste de componentes do genoma do centeio que permitem uma maior rentabilidade da produção e uma maior resistência às doenças.

A suplementação com xilanases, reduz a viscosidade do digesta e das fezes, melhorando a digestibilidade e o valor energético do trigo (Mateos et al., 2002) dado que degradam as paredes celulares do endosperma eliminando a acção encapsuladora e expondo o amido e as proteínas intracelulares à acção das enzimas endógenas (Pettersson e Åman, 1989).

A adição de enzimas permite elevados valores de incorporação de cereais, porque os PNA são digeridos e assim não influenciam negativamente a viscosidade do digesta, melhorando a digestibilidade total dos alimentos e reduzindo a produção de excreta. Além disso, a adição de enzimas exógenas complementa a produção enzimática endógena nas aves (Leeson e Summers, 2001) e melhoram a disponibilidade dos nutrientes.

Mateos et al. (2003), sugerem o uso de enzimas (pentosanases e β -glucanases) em trigos que foram colhidos recentemente porque estes têm um maior teor em fibra solúvel o que origina uma maior viscosidade do digesta e conseqüentemente fezes mais pastosas.

Contudo, as enzimas para serem viáveis têm de sobreviver às condições ácidas existentes na moela e no proventrículo, resistir ao ataque das enzimas endógenas proteolíticas, estar activas no nível de pH do intestino, onde vão actuar, e suportar os mecanismos de processamento do alimento, nomeadamente a temperatura de granulação ou expansão. Bedford (2000) sugere que se a enzima não resistir ao processamento tecnológico deverá ser adicionada posteriormente na forma líquida. No entanto esta adição representa um custo extra e evidencia alguns problemas nomeadamente a necessidade de obter uma boa homogeneização da mistura devido ao baixo grau de incorporação da enzima (Campbell, 1993).

Actualmente existem preparações comerciais de enzimas (CEP) que estão adaptadas às condições de pH e temperatura e são específicas para o animal a que se destinam (frangos vs suínos) bem como à matéria-prima ou substrato (cevada e aveia vs centeio e trigo). A estabilidade das enzimas deve-se em grande parte ao facto destas serem um produto seco, ou seja, sem água livre o que contribui bastante para a estabilidade. No entanto quando se procede ao aquecimento do grão de cereal para provocar a gelatinização do amido, ou durante a granulação, a adição de vapor de água reduzem substancialmente a estabilidade

das enzimas (Campbell, 1993). Para fazer face a este problema existem também no mercado preparações termoprotégidas que resistem às temperaturas de granulação.

5. Estudos realizados

Existem vários estudos que avaliam o efeito da suplementação com xilanases ao longo de todo o ciclo de produção e mostram que os benefícios são mais visíveis a partir dos 21 dias (Bedford e Morgan, 1996; Dusel et al., 1998; Mateos et al., 2002; Fontes et al., 2004). De facto os frangos nos primeiros dias de idade não têm o seu tubo digestivo completamente desenvolvido e a produção de enzimas de origem endógena é baixa, sendo a sua produção estimulada pela presença de alimento. Com o tempo o aparelho digestivo das aves vai sofrendo modificações e a adição de enzimas exógenas reduz o número de microrganismos anaeróbios no hospedeiro. Os estudos realizados demonstram que existe uma ligação entre a idade das aves e a resposta à suplementação enzimática. Bedford et al., (1996) referem que a viscosidade do digesta diminui com a idade e que a resposta é mais evidente em aves mais velhas devido à interacção entre a viscosidade e a microflora intestinal. Por seu lado Dusel et al., (1998) sugerem que a resposta à suplementação enzimática é mais visível devido ao total desenvolvimento da microflora intestinal. Esta ideia é também defendida por Fontes et al., (2004) ao afirmar que a adição de xilanases promove a proliferação da microflora benéfica existente no final do tubo digestivo. Assim, ao condicionar a população microbiana existente na parte terminal do tubo digestivo diminui-se a competição de nutrientes entre a ave e o hospedeiro, saindo beneficiada a ave.

6. Objectivo

A suplementação enzimática é um acréscimo no preço da alimentação e existem vários estudos que demonstram os benefícios da adição de enzimas. No entanto nesses estudos a suplementação enzimática vs não suplementação ocorre durante todo o ciclo produtivo. Assim, este trabalho pretende avaliar a possibilidade de restringir a suplementação enzimática num determinado período, em dietas para frangos de carne.

Com o presente estudo pretende-se averiguar se a suplementação com xilanases de dietas à base de trigo pode ser restringida aos períodos finais da vida animal.

Capítulo III – Materiais e Métodos

1. Preparação do alimento concentrado base

Para a realização deste estudo foi formulada uma dieta à base de trigo e bagaço de soja com a composição que se indica no Quadro 2.

Quadro 2- Composição centesimal, química e valor energético do alimento concentrado base

	Ingrediente	%
Composição Centesimal (%)	Trigo	58,00
	Bagaço de Soja (47% PB)	16,50
	Grão de Soja Extrudido	20,00
	Sal	0,25
	Carbonato de Cálcio	1,15
	Fosfato Dicálcico¹	1,75
	DL- Metionina	0,15
	Premix²	0,20
	Excipiente³	2,00
Composição Química (%)	Matéria Seca	84,00
	Proteína Bruta	21,92
	Cálcio	0,92
	Fósforo	0,73
	Lisina	1,16
	Meteonina	0,45
	Energia metabolizável (Kcal/Kg)	3000

¹Contem 200 g/kg Ca e 180 g/kg P.

² Premix mineral e vitamínico com a seguinte composição por Kg de alimento:biotina 0,5 mg; pantotenato de cálcio 10 mg; calciferol 0,05 mg; cianocobalamina 0,12 mg; ácido fólico 0,5 mg; menadiona 2 mg; ácido nicotínico 30mg; piridoxina 1,7 mg; retinol 2,7 mg; tiamina 1 mg; α -tocoferol 20mg; riboflavina 4,2 mg; Co 0,2 mg; Cu 10 mg; Fe 80 mg, 11 mg; Mn 100mg; Se 0,3 mg; Zn 80 mg.

³Trigo moído.

O trigo, o bagaço de soja e o grão de soja extrudido foram moídos e colocados no misturador. Pesou-se o sal, o carbonato de cálcio, o fosfato dicálcico, a DL-metionina e o premix e foram também colocados no misturador. Procedeu-se posteriormente à mistura de todos os ingredientes durante 7 minutos. Seguidamente a mistura foi granulada, arrefecida e armazenada em caixas de plástico.

A ração foi preparada na fábrica de rações existente na Secção de Produção Animal do Instituto Superior de Agronomia.

O excipiente consistia em 20 g de trigo moído ou uma mistura de 19,5g de trigo moído com 0,5g de enzima por cada kilograma de alimento composto.

Utilizou-se a enzima comercial Porzyme ® 9302 com actividade mínima garantida de 8000 U/g de endo-1,4-beta-xilanase (EC 3.2.1.8), numa concentração de 0,5 g/kg de alimento composto.

A adição do excipiente à ração foi efectuada diariamente utilizando-se uma misturadora industrial, sendo o tempo de mistura 5 minutos.

2. Aves e Instalações

Foram seleccionados 120 pintos do dia, machos, da estirpe Ross 308, permitindo obter uma homogeneidade do bando ao nível do peso vivo.

O ensaio decorreu nas instalações do I.S.A. na secção de Produção Animal, numa sala com temperatura e ventilação controladas durante 36 dias. Cada gaiola dispõe de uma área de 2750 cm² (688 cm² / ave), um comedouro (8,5 cm²/ave) e dois bebedouros de pipe-ta. Em cada 2 gaiolas existia uma lâmpada de aquecimento. A sala foi aquecida antes da entrada dos animais, de modo a que a temperatura ambiente fosse de 27-28°C. A temperatura foi progressivamente diminuída e mantida até ao final do ensaio. Ao terceiro dia do ensaio houve necessidade de substituir as lâmpadas de infravermelhos por lâmpadas incandescentes de 25W brancas devido à elevada temperatura da sala. Durante o estudo, os animais foram alimentados *ad libitum* com a dieta à base de trigo suplementada ou não com a enzima comercial de acordo com o respectivo tratamento.

No início do ensaio as aves foram pesadas individualmente, anilhadas e alojadas em grupos de 3 pintos por gaiola, num total de 40 gaiolas. Foram utilizados 5 tratamentos com 8 réplicas cada, existindo ou não suplementação enzimática consoante o tratamento.

No tratamento B0 não houve suplementação enzimática durante o ensaio; no tratamento B1 houve suplementação enzimática dos 27 aos 36 dias; no tratamento B2 houve suplementação enzimática dos 18 aos 36 dias; no tratamento B3 houve suplementação nas dos 9 aos 36 dias; no tratamento B4 houve suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias. (Quadro 3 e Figura 4). A disposição dos tratamentos por gaiolas está representada na Figura 5.

Quadro 3 - Tratamentos em estudo

Tratamento	Período de suplementação enzimática
B0	Sem suplementação
B1	Dos 27 aos 36 dias
B2	Dos 18 aos 36 dias
B3	Dos 9 aos 36 dias
B4	Dos 0 aos 36 dias

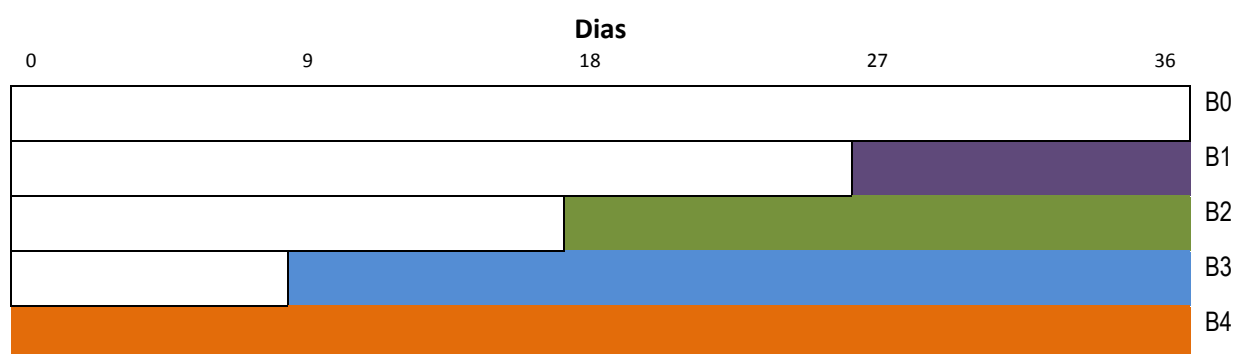


Figura 4 – Esquema representativo dos tratamentos.

B2	B2	B0	B0	B4	B4	B3	B3	B0	B0	B1	B1
B3	B3	B2	B2	B3	B3	B1	B1	B4	B4	B0	B0

B1	B1	B2	B2	B3	B3	B4	B4
B0	B0	B4	B4	B1	B1	B2	B2

Figura 5 – Distribuição dos tratamentos por gaiolas.

O alimento adicionado foi registado diariamente, assim como a mortalidade e de nove em nove dias as aves foram pesadas individualmente para determinação do peso vivo, bem como o excesso de alimento existente nos comedouros. Após a pesagem os animais eram alimentados com a dieta previamente definida consoante o tratamento a que estavam sujeitos.

No fim do ensaio, 8 aves de cada tratamento, uma por cada gaiola, foram abatidas com injeção de tiopental (125mg/ave) das quais se recolheu o digesta do papo, moela, jejuno, duodeno, íleo e cecos para posterior análise da actividade enzimática e do jejuno+íleo e duodeno para análise da viscosidade. Registaram-se as dimensões do jejuno, íleo, duodeno, cecos e o peso do papo, moela, fígado, pâncreas, jejuno, duodeno, íleo e cecos.

3. Procedimentos analíticos

Antes do início do ensaio procedeu-se à determinação da viscosidade das amostras de trigo. Este procedimento efectuou-se antes da formulação da ração para se proceder à escolha do lote de trigo de entre os vários disponíveis. Pesou-se 15g do cereal moído para tubos de centrifuga identificados e em duplicado, adicionou-se 15 mL de solução tampão, agitou-se e centrifugou-se a 9000 rpm durante 10 minutos.

Recolheu-se o sobrenadante que foi depositado em 4 eppendorfs (*a*, *a'*, *b* e *b'*). centrifugou-se os eppendorfs *a* e *b* a 5000 rpm durante 5 minutos e em seguida mediu-se a viscosidade com o viscosímetro *Brookfield viscometer (Model LVDVCP-II)*, *Brookfield Engineering Laboratories, Middleboro, MA*. Os eppendorfs *a'* e *b'* foram colocados num banho a 40°C durante 30 minutos em agitação para aproximação às condições do meio onde a enzima actua, centrifugados a 5000 rpm durante 5 minutos e medida a viscosidade. A actividade enzimática foi determinada a 40°C, segundo o protocolo descrito por Fontes et al (2000), usando xilano solúvel como substrato. Uma unidade de actividade enzimática é definida pela quantidade de enzima necessária para degradar 1μmole de produto por minuto.

Após o abate das aves e a partir das amostras de digesta recolhido procedeu-se à determinação da viscosidade e à análise qualitativa da actividade enzimática. A viscosidade foi medida com um viscosímetro *Brookfield viscometer (Model LVDVCP-II)*, *Brookfield Engineering Laboratories, Middleboro, MA*, após prévia preparação das amostras. As amostras do digesta foram colocadas em tubos de centrifuga e centrifugadas a 10000 rpm durante 10 minutos. Com o sobrenadante mediu-se a viscosidade.

Para avaliar a actividade enzimática centrifugou-se os ependorfs com as amostras do digesta a 13000 rpm durante 5 minutos e recolheu-se o sobrenadante. Preparou-se o meio de crescimento com ágar (2%) e xilano solúvel (0,1%) (substrato para as xilanases) numa solução Tris 10 mM (pH8), que foi esterilizada no autoclave. O meio de crescimento foi colocado nas placas de Petri e após solidificação foram feitos buracos com pipetas de Pasteur onde se introduziram 20µL de amostra do digesta. As placas foram incubadas a 37°C durante 48h. Após o período de incubação as placas foram coradas durante 20 minutos com Vermelho do Congo a 1% diluído numa solução Tris-HCL 10 mM a pH8. Para a leitura dos resultados usou-se uma solução descorante de NaCL 1M diluída numa solução Tris 10 mM a pH8. As placas foram colocadas sobre uma placa de luz para um registo fotográfico que serviu para elaborar uma tabela com os resultados, tendo por base os halos formados à volta dos buracos feitos nas placas onde se tinham colocado as amostras, devidamente identificadas, dos conteúdos intestinais.

4. Análise estatística

A análise estatística foi efectuada recorrendo à análise de variância usando o procedimento *General Linear Models* do programa SAS (SAS, 2001). Médias com valor de F significativas ($P < 0,05$) foram comparadas usando o teste de Duncan. Diferenças entre médias foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

Capítulo IV – Resultados

Dada a variabilidade existente entre as várias amostras de trigo houve necessidade de determinar a viscosidade e a actividade enzimática para seleccionar o lote de trigo a utilizar no fabrico do regime alimentar. Os resultados obtidos encontram-se no Quadro 4.

Quadro 4 - Determinação da viscosidade e actividade enzimática das amostras de trigo

Amostra	Viscosidade a ¹ (cpo)	Viscosidade b ² (cpo)	Actividade Enzimática (abs)
R1	16,20	4,57	0,45
L1	4,52	3,16	0,14
L2	4,05	2,74	0,10
L3	3,22	2,64	0,17

¹ Viscosidade determinada sem a permanência da amostra em banho-maria

² Viscosidade determinada após a permanência da amostra durante 30 minutos em banho-maria a 40°C

Face a estes resultados utilizou-se o lote de trigo representado pela amostra L2 porque este lote apresentava a menor actividade enzimática endógena de entre as amostras disponíveis. Excluíram-se as restantes amostras dado que apresentavam uma actividade enzimática superior, o que influenciaria negativamente a resposta à suplementação enzimática.

No Quadro 5 apresenta-se a composição química do trigo utilizado.

Quadro 5 – Composição química do trigo (expressa em teor de MS).

Humidade	Matéria seca	Cinza	PB	NDF	ADF	ADL
10,15 %	89,85%	1,74%	9,21%	17,15%	2,92%	1,25%

1. Performances zootécnicas.

1.1. Peso Vivo

O peso vivo das aves foi determinado por pesagem individual dos animais aos 0 dias (início do ensaio), aos 9 dias, aos 18 dias, aos 27 dias, e aos 36 dias (fim do ensaio).

No Quadro 6 apresentam-se os valores do peso vivo referentes aos vários períodos de suplementação enzimática.

Quadro 6 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos no peso vivo das aves (g/ave)

Tratamento ¹	9d	18d	27d	36d
B0			1190±17,96 ^b	1731±36,95 ^b
B1	217±1,92	644±7,39		1709±48,24 ^b
B2			1248±16,63 ^{ab}	1855±30,53 ^a
B3		648±14,14	1247±21,95 ^{ab}	1862±37,41 ^a
B4	215±2,54	661±8,19	1263±23,09 ^a	1878±50,59 ^a
P (F)	NS	NS	0,040	0,012

¹ B0 representa o tratamento sem suplementação enzimática, B1 o tratamento com suplementação enzimática dos 27 aos 36 dias, B2 o tratamento com suplementação enzimática dos 18 aos 36 dias, B3 o tratamento com suplementação enzimática dos 9 aos 36 dias e B4 o tratamento com suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias.

^{a-b} Valores na mesma coluna seguidos de letras diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Não se verificam diferenças significativas no peso vivo dos animais sujeitos aos vários tratamentos dos 0 aos 18 dias. Dos 18 aos 27 dias o peso vivo das aves sujeitas ao tratamento B0 e B1 é inferior quando comparado com o peso vivo das aves sujeitas ao tratamento B4. O peso vivo das aves sujeitas ao tratamento B4, B3 e B2 é superior ao peso vivo das aves sujeitas ao tratamento B0 e B1 no período dos 27 aos 36 dias.

1.2. Alimento ingerido

O Quadro 7 representa a quantidade de alimento ingerido durante o ensaio.

Quadro 7 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos na ingestão semanal das aves (g/ave)

Tratamento ¹	0 – 9d	9 – 18d	18 – 27d	27 – 36d	0 – 36 d
B0			1023±22,50	1149±32,84	3041±64,96
B1	219±2,76	626±6,17		1111±28,78	2963±57,61
B2			1066±17,33	1181±26,36	3091±32,40
B3		620±17,54	1066±27,06	1164±24,87	3073±53,57
B4	218±7,71	629±18,93	1076±35,58	1153±47,59	3077±86,00
P(F)	NS	NS	NS	NS	NS

¹ B0 representa o tratamento sem suplementação enzimática, B1 o tratamento com suplementação enzimática dos 27 aos 36 dias, B2 o tratamento com suplementação enzimática dos 18 aos 36 dias, B3 o tratamento com suplementação enzimática dos 9 aos 36 dias e B4 o tratamento com suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias.

^{a-b} Valores na mesma coluna seguidos de letras diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Não se verificam diferenças significativas na quantidade de alimento ingerida pelos animais sujeitos aos vários tratamentos B0, B1, B2, B3 e B4 durante o período em que decorreu o ensaio.

1.3. Índice de Conversão

No Quadro 8 apresentam-se os índices de conversão.

Quadro 8 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos no índice de conversão das aves.

Tratamento ¹	0 – 9d	9 – 18d	18 – 27d	27 – 36d	0 – 36 d
B0			1,87±0,038	2,13±0,088 ^a	1,69±0,041 ^a
B1	1,27±0,015	1,49±0,028		2,11±0,088 ^a	1,67±0,037 ^a
B2			1,79±0,035	2,02±0,069 ^{ab}	1,63±0,023 ^{ab}
B3		1,48±0,040	1,73±0,024	1,92±0,058 ^{ab}	1,59±0,022 ^{ab}
B4	1,29±0,022	1,46±0,025	1,76±0,059	1,80±0,044 ^b	1,57±0,026 ^b
P (F)	NS	NS	NS	0,022	0,040

¹ B0 representa o tratamento sem suplementação enzimática, B1 o tratamento com suplementação enzimática dos 27 aos 36 dias, B2 o tratamento com suplementação enzimática dos 18 aos 36 dias, B3 o tratamento com suplementação enzimática dos 9 aos 36 dias e B4 o tratamento com suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias.

^{a-b} Valores na mesma coluna seguidos de letras diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

O índice de conversão é a razão entre a quantidade de alimento ingerido e o aumento de peso dos animais.

Não se verificam diferenças significativas no índice de conversão dos frangos no período dos 0 – 9 dias, 9 – 18 dias e 18 – 27 dias, quando comparamos os diferentes tratamentos. No período dos 27 aos 36 dias o índice de conversão dos animais sujeitos ao tratamento B4 (suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias) é inferior quando comparado com o índice de conversão dos animais sujeitos aos tratamentos B0 e B1 (sem suplementação enzimática e suplementação enzimática dos 27 aos 36 dias, respectivamente).

No período dos 0 aos 36 dias os animais sujeitos ao tratamento cuja dieta foi suplementada durante todo o ciclo produtivo, B4, apresentam um índice de conversão inferior quando comparado com o índice de conversão dos animais sujeitos ao tratamento B0 e B1 (sem suplementação enzimática e suplementação enzimática dos 27 aos 36 dias, respectivamente).

2. Viscosidade do digesta.

Após o abate das aves foi recolhido o digesta e fez-se a determinação da viscosidade por leitura directa no viscosímetro.

Os valores obtidos encontram-se no Quadro 9 e na Figura 6.

Quadro 9 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos no digesta das aves (em cpo)

Tratamento ¹	Duodeno+Jejuno ²	Íleo ²
B0	3,05	5,33 ^a
B1	3,11	4,53 ^{ab}
B2	3,05	4,36 ^{ab}
B3	3,04	4,84 ^{ab}
B4	2,82	3,90 ^b
SEM	0,072	0,167
P(F)	NS	0,044

¹ B0 representa o tratamento sem suplementação enzimática, B1 o tratamento com suplementação enzimática dos 27 aos 36 dias, B2 o tratamento com suplementação enzimática dos 18 aos 36 dias, B3 o tratamento com suplementação enzimática dos 9 aos 36 dias e B4 o tratamento com suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias.

² Centipoise (cpo)

^{a-b} Valores na mesma coluna seguidos de letras diferentes são significativamente diferentes (P < 0,05).

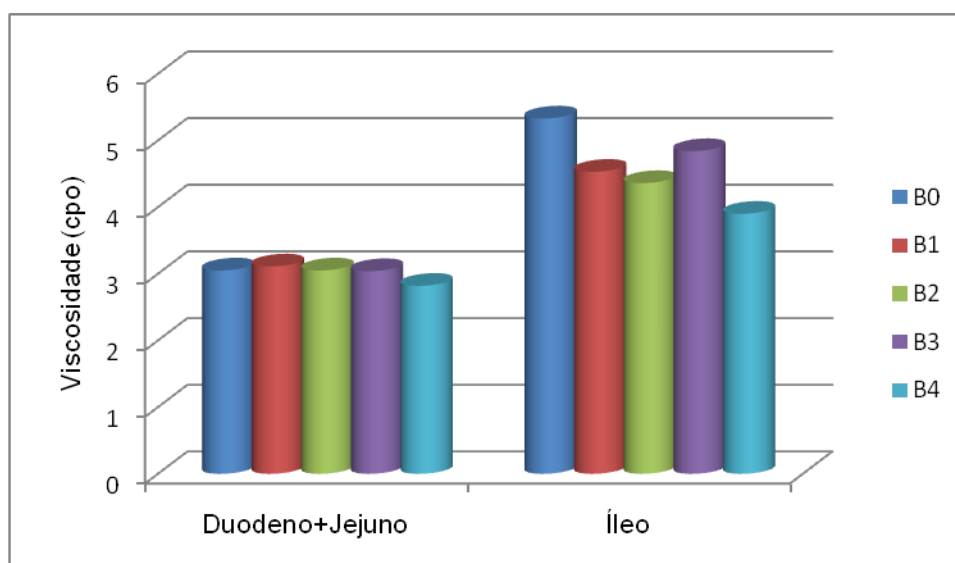


Figura 6 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos no digesta das aves (em cpo)

Os valores da viscosidade determinados no digesta proveniente do duodeno+jejuno não são significativamente diferentes nos vários tratamentos (B0, B1, B2, B3 e B4), no entanto verifica-se um valor tendencialmente inferior nos animais sujeitos ao tratamento B4 (suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias).

A viscosidade do digesta recolhido no íleo dos animais sujeitos ao tratamento B4 (suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias) é inferior quando comparada com a viscosidade do digesta recolhido no íleo dos animais sujeitos ao tratamento B0 (sem suplementação enzimática).

3. Dimensões dos órgãos do sistema digestivo.

Após o abate e depois de retirado o digesta, alguns órgãos do aparelho digestivo das aves foram lavados e pesados. Os valores apresentados no Quadro 10 e na Figura 7 têm em conta o peso vivo (PV) dos animais.

Quadro 10 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos nas dimensões relativas dos órgãos do tracto gastrointestinal das aves.

Tratamentos ¹	Papo (g/Kg)	Moela (g/Kg)	Fígado (g/Kg)	Duodeno (g/Kg)	Jejuno (g/Kg)	Íleo (g/Kg)	Cecos (g/Kg)
B0	3,8	8,5	31,2	6,5	11,7	9,6	5,2
B1	2,7	8,8	28,6	6,3	11,6	9,7	4,7
B2	2,7	10,0	27,4	7,2	12,1	10,1	4,6
B3	3,0	9,1	28,5	6,9	12,6	9,4	5,5
B4	3,3	7,8	27,0	6,3	12,1	10,3	5,2
SEM	0,144	0,280	0,760	0,185	0,317	0,276	0,224
P(F)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

¹ B0 representa o tratamento sem suplementação enzimática, B1 o tratamento com suplementação enzimática dos 27 aos 36 dias, B2 o tratamento com suplementação enzimática dos 18 aos 36 dias, B3 o tratamento com suplementação enzimática dos 9 aos 36 dias e B4 o tratamento com suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias.

^{a-b} Valores na mesma coluna seguidos de letras diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

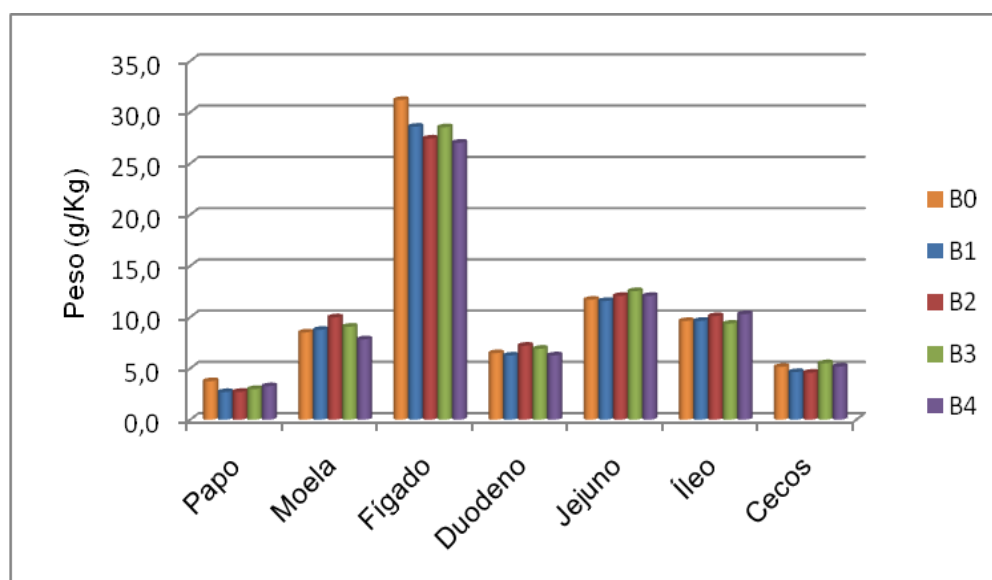


Figura 7 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos nas dimensões relativas dos órgãos do tracto gastrointestinal das aves.

Pela análise do Quadro 10 verificamos que o peso relativo do papo dos animais sujeitos ao tratamento B0 é numericamente superior ao valor registado no papo dos animais B1, B2, B3, B4. O peso da moela dos animais alimentados com o regime B4 é numerica-

mente inferior quando comparado com o peso das moelas dos animais alimentados com os tratamentos B0, B1, B2 e B3. No entanto não são significativamente diferentes, $P < 0,05$.

Os restantes órgãos analisados também não apresentam diferenças significativas entre os diferentes tratamentos.

No Quadro 11 e na Figura 8 apresentam-se as dimensões do duodeno, jejuno, íleo e cecos.

Quadro 11 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos nas dimensões dos órgãos do tracto gastrointestinal das aves (em cm).

Tratamentos ¹	Duodeno	Jejuno	Íleo	Cecos
B0	27,36	67,75	70,75	20,19
B1	27,50	71,00	69,38	17,25
B2	26,25	68,19	69,75	17,94
B3	27,75	68,81	65,13	17,56
B4	28,38	73,88	73,63	17,50
SEM	0,564	1,094	1,216	0,578
P(F)	NS	NS	NS	NS

¹ B0 representa o tratamento sem suplementação enzimática, B1 o tratamento com suplementação enzimática dos 27 aos 36 dias, B2 o tratamento com suplementação enzimática dos 18 aos 36 dias, B3 o tratamento com suplementação enzimática dos 9 aos 36 dias e B4 o tratamento com suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias.

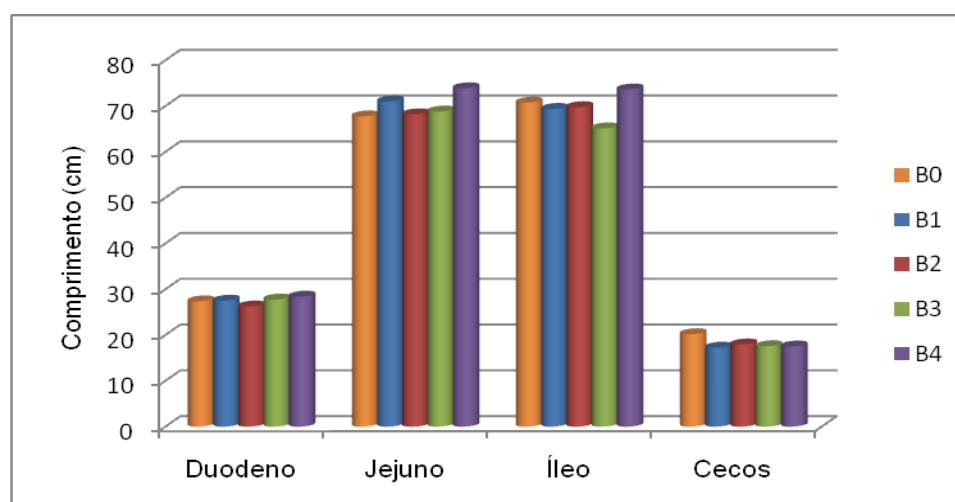


Figura 8 – Efeito da restrição da suplementação de enzimas em dietas à base de trigo para frangos nas dimensões dos órgãos do tracto gastrointestinal das aves (em cm).

Os valores obtidos mostram que não existem diferenças significativas entre os animais sujeitos aos vários tratamentos. No entanto os animais sujeitos ao tratamento B0 apresentam cecos tendencialmente superiores quando comparados com os animais sujeitos a suplementação enzimática.

4. Actividade enzimática

Nos Quadros 12 e 13 apresentam-se os resultados obtidos para a actividade enzimática de origem exógena dos vários compartimentos do aparelho digestivo das aves.

Quadro 12 – Avaliação da actividade xilanásica nas amostras de digesta do papo, moela e duodeno

Tratamento ¹	Papo	Moela	Duodeno
B0	-/-/-/-/-/-/-	-/-/-/-/-/-/-	-/-/-/-/-/-/-
B1	-/-/-/-/-/-/-	-/+/-/-/-/-/±	+/-/-/±/-/-/±
B2	-/-/-/-/-/-/-	-/-/-/-/-/-/-	-/-/-/-/-/-/±
B3	-/-/-/-/-/-/-	-/-/-/-/-/-/-	-/-/-/-/-/-/-
B4	-/-/-/-/-/-	-/-/-/-/±/-	-/-/-/±/-/±/-

¹ B0 representa o tratamento sem suplementação enzimática, B1 o tratamento com suplementação enzimática dos 27 aos 36 dias, B2 o tratamento com suplementação enzimática dos 18 aos 36 dias, B3 o tratamento com suplementação enzimática dos 9 aos 36 dias e B4 o tratamento com suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias.

² Em cada linha apresentam-se os resultados da actividade enzimática, 8 animais por tratamento. A actividade enzimática foi classificada como existente (+), não existente (-) e pouco expressiva (±).

Quadro 13 – Avaliação da actividade xilanásica nas amostras de digesta do jejuno, íleo e cecos.

Tratamento ¹	Jejuno	Íleo	Cecos
B0	-/-/±/±/±/±/-/±	-/-/±/±/±/±/-/±	+ /+ /+ /+ /+ /+ /+
B1	± /- /+ /± /± /- /± /±	+ /+ /+ /+ /± /+ /+ /±	+ /+ /+ /+ /+ /+ /±
B2	- /± /± /- /+ /- /+ /±	+ /+ /± /+ /+ /- /+ /+	+ /+ /+ /+ /+ /+ /+
B3	+ /+ /- /± /+ /± /+ /±	+ /+ /± /± /+ /+ /- /±	+ /+ /+ /± /+ /+ /+ /+
B4	- /- /± /± /± /-	+ /- /± /± /+ /+	+ /+ /+ /+ /+ /±

¹ B0 representa o tratamento sem suplementação enzimática, B1 o tratamento com suplementação enzimática dos 27 aos 36 dias, B2 o tratamento com suplementação enzimática dos 18 aos 36 dias, B3 o tratamento com suplementação enzimática dos 9 aos 36 dias e B4 o tratamento com suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias.

² Em cada linha apresentam-se os resultados da actividade enzimática, 8 animais por tratamento. A actividade enzimática foi classificada como existente (+), não existente (-) e pouco expressiva (\pm).

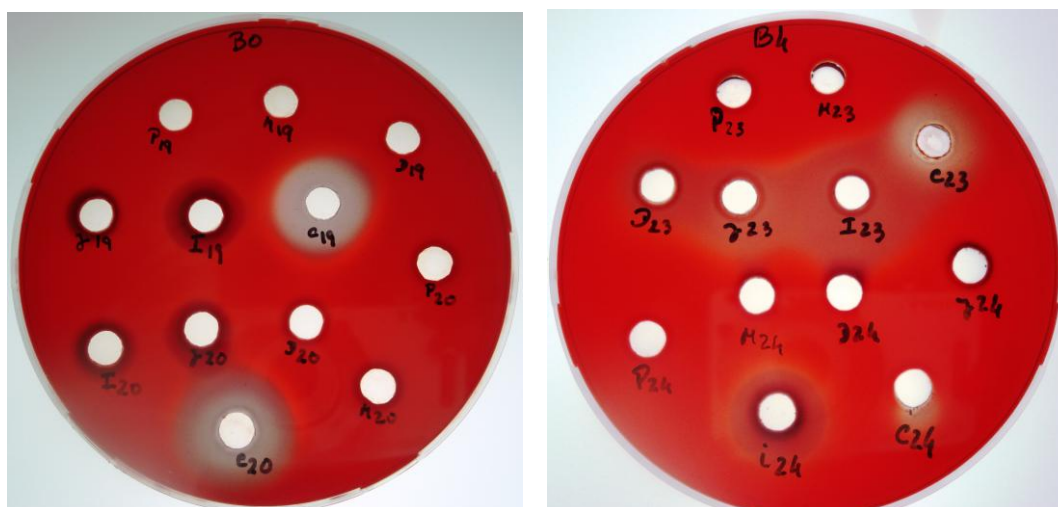
Não se verificou a existência de actividade enzimática no papo dos animais sujeitos aos vários regimes alimentares. No jejuno e íleo a actividade enzimática é significativa em todos os tratamentos.

Os cecos apresentaram actividade enzimática em todos os tratamentos. A presença pouco expressiva em alguns casos é fruto do pouco sobrenadante para incubar nas placas de Petri.

Nos animais pertencentes ao regime alimentar B4 apenas se fez a determinação da actividade enzimática em 6 animais ao contrário do que aconteceu com os restantes tratamentos em que foram 8 animais.

Nas Figuras 9 e 10 está representada a metodologia utilizada para avaliar a actividade de xilanásica.

Figura 9 e 10 – Exemplificação da metodologia para avaliação da actividade xilanásica em amostras de digesta de dois animais do tratamento B0 (sem enzima) e de dois animais do tratamento B4 (com enzima) utilizando placas de agar contendo xilano. As áreas de actividade xilanásica aparecem como zonas descoradas, num fundo vermelho. Abreviaturas: P – papo, M – moela, D – duodeno, J – jejuno, I – íleo, C – cecos



Nas Figuras 9 e 10, ao avaliar-se a actividade enzimática, considerou-se em P19, M19, D19, P20, D20, M20, P23, M23, P24, M24 e D24 actividade inexistente (-); em J19, I19, J20, I20, J24 e C24 actividade pouco expressiva (\pm), em C19, C20 J23, I23, I23 e C23 actividade expressiva (+).

Discussão

Este trabalho foi realizado com o intuito de perceber se é possível a restrição da suplementação com xilanases em períodos específicos do ciclo produtivo dos frangos. Existem vários estudos que analisaram a suplementação enzimática durante todo o ciclo de produção, nomeadamente Steinfeldt et al. (1998), Hadorn et al. (2001), Wu et al. (2004) e Wang et al. (2005).

No capítulo anterior apresentaram-se os resultados obtidos para os vários parâmetros zootécnicos. No início do ensaio os animais foram pesados e distribuídos pelos vários tratamentos. O seu peso vivo era muito idêntico pois pretendia-se a uniformidade do bando e dos tratamentos. O peso vivo dos animais aos 9 e aos 18 dias era idêntico entre tratamentos. Aos 27 dias começou-se a verificar uma diferença significativa entre os tratamentos. Os animais cuja dieta foi sempre suplementada com enzima apresentavam um peso vivo superior quando comparados com os animais alimentados com uma dieta sem suplementação enzimática. Estes dados vêm confirmar os estudos de Bedford e Morgan, (1996), Dusel et al., (1998), Mateos et al., (2002), e Fontes et al., (2004) que defendem que os efeitos da suplementação enzimática são mais visíveis após os 21 dias devido ao completo desenvolvimento do tubo digestivo. Choct et al., (1992b) referem que a resposta à suplementação enzimática depende da idade da ave e que esta está relacionada com o desenvolvimento da fisiologia e da microflora intestinal.

Aos 36 dias verifica-se uma diferença mais acentuada e que comprova o que foi anteriormente dito, os animais alimentados com uma dieta sem suplementação enzimática (B0) e os animais alimentados com dieta suplementada dos 27 aos 36 dias (B1) apresentam um peso vivo inferior ao registado nos animais cuja dieta foi suplementada com enzima dos 9 aos 36 dias (B3), dos 18 aos 36 dias (B2) e dos 0 aos 36 dias (B4). O peso vivo dos animais sujeitos aos tratamentos B2 e B3 apresentavam aos 36 dias um peso semelhante ao dos animais sujeitos ao tratamento B4, o mesmo foi verificado por Dusel et al., (1998) e Fontes et al., (2004) que referem que independentemente do início do período de suplementação os seus efeitos são mais visíveis após os 21 dias. Este facto poderá dever-se ao desenvolvimento do sistema digestivo das aves que numa fase inicial do seu ciclo de vida não está devidamente desenvolvido e operacional, como sugere Mateos et al., (2003) a resposta à suplementação enzimática não é tão evidente porque o trânsito digestivo é rápido. Num período posterior da vida das aves, a suplementação enzimática é benéfica pois permite que as enzimas exógenas hidrolisem os arabinoxilanos (Francesch, M. (1996); Mateos et al.,

(2002); Meng, X. et al. (2005); Wang et al. (2005)) libertando os nutrientes encapsulados e tornando-os disponíveis para absorção pelas aves.

A suplementação enzimática não altera o paladar do regime visto que não se verificaram diferenças significativas na quantidade de alimento ingerido pelas aves sujeitas aos diversos tratamentos, o mesmo foi descrito por Francesch, M. (1996) e Fontes et al. (2004) que verificaram que a suplementação enzimática não influencia a quantidade de alimento ingerido, mais sim a sua digestibilidade. Resultados diferentes foram encontrados por Pettersson and Amon (1989), Bedford (2000) e Wang et al. (2005) que sugeriam que a suplementação enzimática de dietas com xilanases promovia um aumento da quantidade ingerida.

Relativamente ao índice de conversão, verifica-se que, numa fase inicial (dos 0 aos 27 dias) não há diferenças significativas entre os vários tratamentos. No período dos 27 aos 36 dias há uma diminuição no índice de conversão entre os tratamentos B4 (suplementação enzimática dos 0 aos 36 dias), B0 e B1 (sem suplementação enzimática e suplementação enzimática dos 27 aos 36 dias, respectivamente) o que sugere que os animais demorem algum tempo a responder à suplementação enzimática, tal como refere Fontes et al. (2004). Analisando o período em que decorreu o ensaio verificamos que os animais que foram suplementados durante todo o ciclo produtivo apresentavam um índice de conversão mais baixo. O mesmo verificaram Pettersson and Åman (1989), Dusel et al. (1998), Steenfeldt et al. (1998), Hadorn et al. (2001), Wu et al. (2004) em ensaios onde ocorreu suplementação enzimática durante todo o período de vida dos animais. No entanto, o índice de conversão dos animais sujeitos ao tratamento B3 e B2 (suplementação enzimática dos 9 aos 36 dias e dos 27 aos 36 dias, respectivamente) tendem a aproximar-se do índice de conversão dos animais do tratamento B4, evidenciando o efeito positivo dos polissacáridos não amiláceos na performance das aves ao reduzir a competição bacteriana com o hospedeiro (Bedford e Morgan, 1996) visto existirem mais nutrientes disponíveis resultantes da fermentação microbiana.

A utilização de xilanases em dietas à base de trigo para frangos permitem a diminuição da viscosidade do digesta dado que estas degradam parcialmente as cadeias xilánicas dos polissacáridos não amiláceos diminuindo assim a capacidade de formar um gel (Francesch, M., 1996) e permitindo uma melhor digestão e absorção dos nutrientes (Dusel et al., 1998; Steenfeldt et al., 1998; Mateos et al., 2002; Wu et al., 2004). Neste estudo não se verificaram diferenças significativas na viscosidade do digesta proveniente do duodeno e do jejuno, como as verificadas por estes autores. No entanto é visível a tendência de uma vis-

cosidade inferior no caso dos animais cuja dieta foi suplementada durante todo o ciclo produtivo. Choct et al., (2004) verificaram que nem todas as xilanases reduzem a viscosidade do digesta, mas podem melhorar o desempenho produtivo dos frangos. Quando se analisa a viscosidade do digesta proveniente do íleo verifica-se uma diferença significativa entre os animais cuja dieta não foi suplementada (B0) e os animais cuja dieta foi suplementada durante todo o ciclo produtivo (B4). No entanto os animais cuja dieta foi suplementada durante alguns períodos do ciclo produtivo (B1, B2 e B3) apresentam uma viscosidade tendencialmente inferior quando comparados com os animais do tratamento B0. Bedford (1995) e Choct et al., (2004) referem que a viscosidade do digesta interfere na microflora intestinal e nas funções fisiológicas do intestino. A redução da viscosidade permite uma acção enzimática mais eficaz sobre o digesta permitindo uma melhor capacidade de digestão dos nutrientes e o aumento da velocidade do transito intestinal. Os dados obtidos são apoiados pelos estudos dos autores citados, e demonstram que a suplementação enzimática permite reduzir a viscosidade do digesta, aumentando a disponibilidade e absorção dos nutrientes e contribui ainda para a obtenção de fezes menos pegajosas e húmidas.

As dimensões relativas dos órgãos do sistema digestivo analisados, papo, moela, fígado, duodeno, jejuno, íleo e cecos, não apresentaram diferenças significativas entre os vários tratamentos. Estes dados contrariam os estudos de Wu et al. (2004) e Wang et al (2005) que evidenciam uma redução no tamanho e peso relativo dos órgãos do tracto digestivo quando as aves são alimentadas com dietas suplementadas com enzimas. Lázaro et al. (2004) refere que o peso do papo e da moela é inferior em animais cuja dieta foi suplementada com enzimas o que pode ser visível no nosso caso, comparando os animais do tratamento B0 e B4, embora a diferença não seja significativa ($P < 0,05$). O facto de órgãos do tubo digestivo apresentarem um peso relativo e tamanho menor é benéfico pois reflecte-se num melhor rendimento em carcaça. No nosso estudo a adição de enzima à dieta era feita após a granulação com o auxílio de uma misturadora e o alimento tornava-se um pouco mais farináceo, o que poderá ter influenciado o desenvolvimento muscular da moela (Mateos et al., 2007). Os animais sujeitos ao tratamento B0 (sem suplementação enzimática) evidenciaram cecos com um comprimento um pouco superior possivelmente devido a um maior desenvolvimento dos mesmos em virtude da actividade microbiana aí existente responsável pela degradação parcial de polissacáridos estruturais.

No que concerne à actividade enzimática podemos verificar que no papo não houve actividade. Na moela e no duodeno surgiram alguns casos de actividade que poderá ter sido originada pelo facto da principal matéria-prima, o trigo, ter na sua constituição xilanases

endógenas. No jejuno, íleo e cecos a actividade enzimática é mais expressiva devido à presença de microrganismos e à ocorrência da maior parte dos fenómenos de absorção dos nutrientes (jejuno e íleo). Os cecos são um local de elevada actividade enzimática visto aí ocorrem muitas fermentações microbianas. Choct et al., (1996) observaram intensas fermentações no intestino delgado de aves alimentadas com dietas que continham PNA solúveis, tendo as fermentações sido reduzidas através da suplementação enzimática com xilanasas. Ao inibir as fermentações no íleo, estimulam-se as fermentações nos cecos, o que é benéfico para o hospedeiro pois permite o desenvolvimento de bactérias benéficas em detrimento das bactérias patogénicas.

Os resultados obtidos no presente estudo evidenciam que a suplementação enzimática é benéfica e tende a melhorar as performances zootécnicas das aves o que permite obter animais mais pesados e robustos no mesmo espaço de tempo e com idêntico consumo de alimento. Mais, a suplementação enzimática parece não ser necessária durante todo o ciclo produtivo, bastando que a seja feita após os vinte e um dias tal como sugere Fontes et al., 2004. Torna-se no entanto importante a realização de mais estudos que possam comprovar estes resultados.

Conclusão

Com base no presente estudo podemos confirmar os estudos de vários autores que referiam que a suplementação enzimática melhora as performances zootécnicas dos animais, nomeadamente o peso vivo, o índice de conversão sem que para isso seja necessário um aumento da quantidade ingerida. É sabido que a adição de enzimas às dietas de frango traz um acréscimo aos custos de produção, e numa época de crise mundial é essencial economizar e rentabilizar a produção, por isso ao reduzir o período de suplementação enzimática reduzem-se os custos com a alimentação.

Os benefícios da suplementação são mais evidentes após os vinte e um dias, pelo que parece ser desnecessária que a mesma seja feita num período inicial, restringindo-se apenas a uma fase posterior do ciclo de vida. Assim, sugere-se a adição de enzimas exógenas apenas nas rações de crescimento. As melhorias são significativas, nomeadamente a redução da viscosidade do digesta, melhor aproveitamento dos nutrientes, menor consumo de água e a obtenção de fezes menos pegajosas que se traduzem também num melhor bem-estar animal.

Capítulo VII – Referências Bibliográficas

Annison, G., Choct, M., 1991. Anti-nutritive activities of cereal non-starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. *World Poultry Science Journal*, 47: 232-242.

Bailey, R. W., 1973. *Chemistry and Biochemistry of Herbage*, Vol. 1:171.

Bedford, M. R., 1995. Mechanism of action and potential environmental benefits from the use of feed enzymes. *Animal Feed Science and Technology*, 53: 145-155.

Bedford, M. R., 1996. The effect of enzymes on digestion. *Journal of Applied Poultry Research*, 5: 371-378.

Bedford, M. R., 2000. Exogenous enzymes in monogastric nutrition – their current value and future benefits. *Animal Feed Science and Technology*, 86: 1-13.

Bedford, M. R., Morgan, A. J., 1996. The use of enzymes in poultry diets. *World Poultry Science Journal*, 52: 61-68.

Boleli, I. C., Maiorka, A., Macari, M., 2002. *Estrutura Funcional do Trato Digestório. Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte – 2ª Edição Ampliada*. Macari, M., Furlan, L. R., Gonzales, E. (eds). Funep, 75-95.

Campos, L. S., 2005. *Entender a Bioquímica – 4ª Edição*, Escolar Editora, Lisboa.

Choct, M., Annison, G., 1992b. The inhibition of nutrient digestion by wheat pentosans. *British Journal of Nutrition*, 67, 123–132.

Choct, M., 1997. Feed Non-Starch Polysaccharides: Chemical Structures and Nutritional Significance. *Feed Milling International*, June: 13-26.

Choct, M., Kocher A., Waters D.L.E., 2004. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, v. 92, p. 53-61.

Campbell, G. L., 1993. Utilización de enzimas en granos de cereales: fitasas, glucanasas y pentosanas. IX Curso de Especialización FEDNA. España.

Dusel, G., Kluge, H., Jeroch, H., 1998. Xylanase supplementation of wheat-based rations for broilers: Influence of wheat characteristics. *Journal of Applied Poultry Research*, 7: 119-131.

Food and Agriculture Organization, 2007. Crop prospects and food situation. GIEWS-The global information and early warning system on food and agriculture n.º 5: Outubro.

Fontes, C. M. G. A., Ponte, P. I. P., Reis, T. C., Soares, M. C., Gama, L. T., Dias, F. M. V., Ferreira, L. M. A., 2004. A family 6 carbohydrate-binding module potentiates the efficiency of a recombinant xylanase used to supplement cereal-based diets for poultry. *Poultry Science*, 45: 648-656.

Friesen, O.D.; Guenter, W.; Marquardt, R.R.; Rotter, B.A. 1992. The effect of enzyme supplementation on the apparent metabolizable energy and nutrient digestibilities of wheat, barley, oats, and rye for the young broiler chick. *Poultry Science*, 71, 1710–1721.

Frigård, T., D. Pettersson, and P. Åman, 1994. Fiber-degrading enzyme increases body weight and total serum cholesterol on broiler chickens fed a rye-based diet. *Journal of Nutrition* 124: 2422 – 2430.

Francesh, M., 1996. Bases de la utilización de complejos enzimáticos en avicultura. XVII Curso de especialización FEDNA.

Guenter, W. 1997. Practical experience with the use of enzymes. In: Marquardt R. R. & Han Z. (ed.) *Enzymes in Poultry and Swine Nutrition*. IDRC.

Hadorn, R., Wiedmer, H., Broz, J., 2001. Effect of an enzyme complex in a wheat-based diet on performance of male and female broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 10: 340-346.

http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1946/index.html

Larbier, M., Leclercq, B., 1994. *Nutrition and Feeding of Poultry*. Nottingham University Press, 225-226.

Lázaro, R., Mateos G. G., 2008. Necesidades nutricionales para avicultura – Normas FEDNA. FEDNA.

Leeson, S., Summers, J.D., 2001. *Nutrition of the Chicken* – 4th Edition. University Books. Canada, 5-6, 258-259, 432-437, 480-483.

Mateos, G. G., Lázaro, R., Gracia, M. I., 2002. Modificaciones Nutricionales y problemática en aves. XVIII Curso de Especialización FEDNA. España.

Mateos, G. G., Blass, C. de, P. G.^a, 2003. *Tabelas FEDNA de composición y valor nutritivo para la formulación de piensos compuestos* (2^a ed.). Madrid, España. 423 pp.

Mateos, G. G., González-Alvarado, J.M., Jiménez, E., Vicente, B., 2006. Efectos de la fibra dietética en piensos de iniciación para pollitos y lechones. XXII Curso de Especialización FEDNA. España.

Mateos, G. G., Jiménez-Moreno, E., González-Alvarado, J.M., Valencia, D. G., 2007. Estrategias de alimentación en la primera semana de vida del pollito. XXIII Curso de Especialización FEDNA. España.

McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., 1995. Animal Nutrition – 5th Edition. Longman, 503-505.

Meng, X., Slominski, B.A., Nyachoti, C.M., Campbell, L.D., Guenter, W., 2005. Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and their effect on nutrient utilization and broiler chicken performance. Poultry Science, 84: 37-47.

National Research Council, 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th ed., National Academy Press, Washington, D.C..

Pettersson, D., Åman, P., 1989. Enzyme supplementation of a poultry diet containing rye and wheat. British Journal of Nutrition, 62: 139-149.

Pintea, V., Jurubescu, V., Cotrut, M., 1977. Contributii la studiul motilitatii esofagului las pasari (gaina). Lucr. Stiint., 1: 297-310.

Reis, T. A. F. C., Dias, F. M. V., Fontes, C. M. G. A., Chaveiro Soares, M., Ferreira, L. M. A., 2001. Avaliação do potencial biotecnológico de xilanases do *Clostridium thermocellum* e *Cellvibrio mixtus*: sua utilização na suplementação de dietas à base de trigo para frangos de carne. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, 96 (539): 125-139.

SAS Institute, 2001. SAS User's Guide: Statistics. Version 8.02 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Steenfeldt, S., Müllertz, A., Jensen, J.F., 1998. Enzyme supplementation of wheat-based diets for broilers 1. Effect on growth performance and intestinal viscosity. Animal Feed Science and Technology, 75: 27-43.

Wang, Z. R., Qiao, S. Y., Lu, W. Q., Li, D. F., 2005. Effects of enzyme supplementation on performance, nutrient digestibility, gastrointestinal morphology, and volatile fatty acid profiles in the hindgut of broilers fed wheat-based diets. Poultry Science, 84: 875-881.

Wu, Y. B., Ravindran, V., Thomas, D. G., Birtles, M. J., Hendriks, W: H., 2004. Influence of phytase and xylanase, individually or in combination, on performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology in broilers fed wheat-based diets containing adequate level of phosphorus. *Poultry Science*, 45: 76-84.